(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Zürich.)

Zur Glycogenbildung in der Leber.

Von

B. Luchsinger,

Med. pract., Assistent am physiologischen Laboratorium.

Gegenüber der von Pavy, Tscherinow, Dock vertretenen Ansicht, Glycogen könne sich in der Leber direct aus eingeführtem Zucker bilden, hat neuerdings Weiss[1]) auf Grund seiner Versuche mit Glycerin die Behauptung ausgesprochen, in jenen Versuchen mit Zuckerfütterung sei Glycogen nicht aus Zucker neu gebildet worden, sondern der Zucker selbst vielleicht, sicher aber sein Umwandlungsproduct, die Milchsäure habe nur das aus anderer Quelle fortwährend entstehende Glycogen vor Zehrung geschützt, eine Anhäufung desselben somit ermöglicht.

Nach der einen Ansicht also würde das Glycogen als ein Anhydrid des Traubenzuckers durch Synthese unter Wasseraustritt aus Zuckermolecülen aufgebaut werden. Diese Vorstellung möchte ich die Hypothese der Anhydridbildung nennen. Da andere Synthesen mit Wasseraustritt, ich erinnere an die Bildung der Hippursäuren, als Function der Leberzellen wirklich anerkannt sind, so steht diese Hypothese nicht ohne Analogie.

Nach der andern Ansicht dagegen können ebenso gut wie Zucker auch leicht verbrennliche Molecüle, deren Verwendung zum Aufbau von Glycogen gradezu unwahrscheinlich wäre, eine Vermehrung von Glycogen hervorrufen dadurch, dass sie durch ihre leichte Verbrennlichkeit die Oxydationsprocesse des Körpers von diesem ablenken und auf solche Weise Glycogen ersparen. Diese Auffassung nenne ich im Folgenden kurz die Ersparnisshypothese. Als thatsächliche Stütze derselben werden die Versuche von Weiss geltend gemacht, in denen nach Glycerininjectionen sich der Glycogengehalt der Leber vermehrt fand.

Mit andern leicht oxydabeln Stoffen scheint Weiss nicht gearbeitet zu haben. Es wäre dies aber um so wünschenswerther gewesen, als Glycerin in seiner chemischen Constitution dem

1) Ueber die Quelle des Leberglycogens. Sitzungsber. d. k. Acad. d. Wissenschaften Bd. LXVII. 3. Abth. 1873, Januar.

Zucker jedenfalls nahe steht, die Möglichkeit einer Umwandlung von Glycerin in Zucker sogar sehr wohl denkbar erscheint (vgl. Kühne, physiologische Chemie pag. 375 u. flgd.).

Der Aufforderung von Herrn Prof. Hermann folgend, entschloss ich mich daher, diese Lücke auszufüllen.

a) Zur Methode.

Nach dem Vorgange von Weiss habe ich anfänglich nur an Hühnern gearbeitet, erst später habe ich auch Kaninchen für meine Versuche verwendet. Das Regime der Hühner war: Stets fasteten sie 1 $^1/_2$ Tag nach dem Einkaufe und wurden dann gewogen. (Das Wägen der Hühner geht sehr leicht von Statten, wenn man sie nur auf den Rücken legt, sie bleiben dann meist wie todt ruhig liegen.) Darauf bekamen sie 2—3 Tage als Futter sehr mageres, sorgfältig von jeglichen Fettresten befreites ausgesottenes Rindfleisch, fein zerhackt; dieses frassen sie gern; wenn nicht, wurden sie 2 Mal täglich mit je $^1/_8$ Pfund gestopft. Nur einmal des Tages zu stopfen, noch dazu mit Quantitäten von $^1/_2$—$^2/_3$ Pfund, wie Weiss angibt, schien mir unzweckmässig, da sich bei den ersten Versuchen, die ich genau nach den Angaben von Weiss anstellte, sehr bald zeigte, dass bei solcher Ueberfüllung des Kropfes leicht Katarrh desselben eintritt, die Verdauung zu leiden beginnt und die dann auftretenden profusen Diarrhöen das Thier vollends zum Versuche untauglich machen. Nach Ablauf der Rindfleischdiät wurden die Hühner wieder gewogen, das Gewicht als „Gewicht am Ende der Fleischfütterung“ eingetragen und nun mit der Fibrinfütterung begonnen. Diese dauerte meist 4—5 Tage. Das Fibrin war gut ausgewaschen, nachher im Luftbade getrocknet worden; $^1/_8$ Pfund wurde für jedes Huhn abgewogen, mit Kochsalzlösung von circa 0,7 pCt. aufquellen gelassen und je Morgens 9 Uhr und Abends 6 Uhr den Thieren gereicht; frassen sie nicht bereitwillig, so wurden sie wieder gestopft. Frisches Wasser bekamen die Thiere 2 Mal täglich, täglich wurden ihre Behälter gereinigt. Dass stets strenge Sorge dafür getragen wurde, dass die Hühner nichts Anderweitiges bekamen, brauche ich wohl kaum zu bemerken. Am Ende der Fibrinfütterung wurden die Thiere wieder gewogen, ihr Gewicht als „Gewicht am Ende des Versuchs“ notirt und dann zur Fütterung mit den Versuchsstoffen geschritten. Diese, sämmtlich

in Lösung, wurden, abweichend von Weiss, einfach durch einen Katheter, der mit der grössten Leichtigkeit in den Kropf eingeführt werden kann, injicirt. Es hat diese Methode der Application jedenfalls den Vortheil, dass abgemessene Quantitäten viel genauer dem Thiere beigebracht werden können, als durch Eingiessen in den Schlund, dass weiter die ganze Procedur offenbar viel schneller und reinlicher auszuführen ist. Am Ende des Versuchs wurden die Hühner stets durch einen Halsschnitt getödtet, die Bauchfedern rasch gerupft, das Sternum durch zwei Schnitte längs des untern Rippenrandes abgehoben, die Leber herausgeschnitten und nach schneller Entfernung der Gallenblase in daneben bereit stehendes siedendes Wasser geworfen und darin mit der Scheere rasch zerkleinert. Der Glycogengehalt der Leber wurde dann stets genau nach der von Brücke angegebenen Methode bestimmt. Gleich nach Herausnahme der Leber pflegte ich häufig auch einen oder beide Musculi pectorales herauszuschneiden und in siedendem Wasser, dem Natronlauge in geringer Quantität beigesetzt war, zerkochen zu lassen. Nach dem Erkalten wurde mit Salzsäure angesäuert, filtrirt und das Filtrat nach Brücke's Methode behandelt.

Von den Versuchen an Kaninchen ist einzig zu bemerken, dass sie meist 4—6 Tage vor Beginn der Injection hungerten.

b) Versuche.

In erster Reihe kam es natürlich darauf an, die von Weiss gefundene Thatsache einer durch Glycerininjectionen bewirkten Glycogenvermehrung zu constatiren. Zugleich erachtete ich als wünschenswerth, in der gleichen Versuchsreihe einem Huhne Zuckerinjectionen zu machen. Denn erstens war die Glycogenvermehrung nach Zuckerinjectionen beim Huhne, wenn auch äusserst wahrscheinlich, doch noch nicht nachgewiesen; zweitens aber, und das war mein Hauptgrund einen solchen Versuch anzustellen, erhielt ich dadurch Gelegenheit, ein Normalglycogen zu gewinnen, mit welchem ich auf andere Weise erzeugte Glycogene vergleichen könnte.

Mein Glycerin war von 1,25 specifischem Gewicht, es wurde stets vor den Versuchen mit Trommer's Probe auf Abwesenheit von Zucker geprüft. In beiden angestellten Versuchen wurde es unverdünnt eingegeben, wie es auch in den Versuchen von

Weiss der Fall gewesen zu sein scheint. Dem Zuckerthier wurde Traubenzuckerlösung von 40 pCt. injicirt. Das kräftigste Thier der Reihe wurde im Anfang des Versuchs zur Controle getödtet. Das Regime war bei sämmtlichen vier Hühnern das gleiche, 2 Tage Fleisch-, 5 Tage Fibrindiät.

Der Uebersichtlichkeit halber fasse ich die Resultate dieser Versuche in der beifolgenden Tabelle zusammen.

№	Art des Versuchs	Gewicht in Grm.			Zeit u. Grösse der Injectionen, Zeit der Tödtung	Gesammt-Quantität der injicirten Substanz	Leber-Glycogen
		Am Anfange d. Versuches	Am Ende d. Fleischfütterung	Am Ende d. Versuches			
1.	Controlversuch .	1235	1280	1200	Tödtung 7 Uhr Morg. bei Beginn des Versuches.	—	Unwägb. aber durch Jodreaction nachweisbare Spuren.
2.	Zuckerversuch .	1050	1020	970	9., 11. 30, 1. 30, 3. 30, 5. 30, je 25 Ccm. Tödtung 7. 30.	50 Grm. Traubenzucker	1,678 Grm.
3.	Glycerinvers. (I)	1020	1010	970	9 Uhr 18 Ccm. 12., 3. 30 je 12 Ccm. Tödtung 4 Uhr 30 Min.	42 Ccm. Glycerin	0,550 Grm.
4.	Glycerinvers. (II)	1130	1140	1105	6., 9., 12., 3., 5 Uhr je 12 Ccm. Tödtung 7 U.	60 Ccm. Glycerin	0,710 Grm.

Als besondere Bemerkungen sei noch erwähnt: das Zuckerthier (Nr. 2) war stets munter, nur gegen Ende des Versuchs trat geringe Diarrhöe auf. Das Glycerinthier (Nr. 3) bekam bald nach der zweiten Injection profuse Diarrhöen, wurde nach der dritten Injection so matt, dass es kaum mehr ordentlich stehen konnte, bekam dann bisweilen Krämpfe, worauf ich für gut fand, den Versuch zu beenden. Es ist vielleicht auffallend, dass trotz des übeln Befindens des Thieres während der letzten Stunden doch beträchtliche Mengen Glycogen sich in der Leber vorfanden. Das zweite Glycerinthier (Nr. 4) war bis an sein Ende vollkommen munter.

Wie die Tabelle zeigt, schwindet also der Glycogengehalt der Leber bei Einhalten der angegebenen Diät bis auf unwägbare Spuren. Es kann dies wohl als allgemein gelten, da es für das schwerste und kräftigste Thier der Reihe gilt. So erhebliche Mengen Glycogen, wie sie in Folge der Zucker- und Glycerininjectionen auftraten, sind somit als neugebildet anzusehen, nicht als Rest von vor der Eiweissdiät erworbenem Glycogen. Weiss

meint (p. 4), in Dock's Versuchen seien durch den Hunger alle leicht verbrennlichen Substanzen verzehrt gewesen, so dass nunmehr selbst eine schwer verbrennliche Substanz wie Zucker den Sauerstoff an sich und vom Glycogen abzog, welches sich nun in der Leber anhäufte; hiernach müsste man meinen, dass bei nicht ausgehungerten Thieren Zuckerinjectionen nicht zur Glycogenanhäufung führen. Mein Versuch (Nr. 2) aber zeigt, dass dies evident der Fall ist, und dass Zucker, obwohl er nach Scheremetjewski nicht verbrannt wird, oder nach Weiss doch wenigstens viel schwerer als Glycerin, doch viel reichlichere Glycogenanhäufung bewirkt als letzteres.

Vor Allem war jetzt aber dringend geboten, diese so erhaltenen Glycogene auf ihre Identität zu prüfen, mein Normalglycogen mit dem durch Glycerininjectionen erzeugten glycogenartigen Körper zu vergleichen. Es war dies um so nothwendiger, als von Weiss gar keine Characteristik für sein „Glycogen“ mitgetheilt worden ist. Es wird von ihm einfach angegeben, dass er dieses nach der von Brücke empfohlenen Methode dargestellt habe. Dass der dann resultirende Körper stets gewöhnliches Glycogen sein müsse, wurde von ihm als selbstverständlich angenommen. Es ist mir aber sehr wohl denkbar, dass auf diese Weise verschiedene, allerdings vielleicht verwandte Stoffe als Glycogen figuriren könnten. Glycerin, mit dem Zucker im Bau des Molecüls so nahe verwandt, hätte ja ebenfalls ein Anhydrid bilden können; es hätte ferner in irgend einen Zucker übergehen können, der dann nach der Hypothese der Anhydridbildung vielleicht ein besonderes Anhydrid, also ein neues Glycogen bilden könnte.

Sämmtliche so mögliche Anhydride könnten gewiss in vielen Beziehungen, wie gerade in Bezug auf Löslichkeit resp. Quellbarkeit in verschiedenen Medien sich sehr ähnlich verhalten und dann würde die nach Brücke's Methode erhaltene Substanz auch irgend einer von diesen angedeuteten Körpern, ebenso gut wie das gewöhnliche Glycogen, sein können.

Als Vorversuche gleichsam stellte ich nun mit dem Glyceringlycogen die bekannten Reactionen auf Glycogen an, und zwar mit positivem Resultat. Bedenkt man jedoch, wie geringe Mengen Zucker durch Trommer's Probe noch nachweisbar, wie ent-

sprechend noch geringere Mengen Glycogen durch die Jodreaction noch deutlich zu erkennen [1]), so sieht man, will man sich gegen den Einfluss etwaigen Restglycogens sicher stellen, sich gezwungen, eine quantitative Vergleichung beider Glycogene anzustellen. Das Verhalten des Glycogens zum polarisirten Licht dazu zu benutzen, schien mir das Zweckmässigste.

Von dem Normalglycogen und dem fraglichen Körper wurde eine Lösung von 5 pCt. hergestellt und 2 Röhren des Circumpolarisationsapparates von Wild damit gefüllt. Die eine (a), 220 Mm. lang, wurde mit Normallösung, die andere (b), 200 Mm. lang, mit der fraglichen Substanz gefüllt. Sieht man durch die gefüllten Röhren, so erblickt man die Gegenstände in tiefem Gelb, die Glycogenlösung lässt als trübes Medium in diesen langen Röhren nur die rothen und gelben Strahlen durch, die andern werden reflectirt oder absorbirt. Das von heller Wolke kommende Licht war zu schwach, um die Interferenzstreifen erkennen zu lassen; richtete man dagegen die Röhren direct gegen die Sonne, so waren die Streifen sehr deutlich zu sehen, ohne dass das Auge merklich geblendet wurde. Die Röhre (a) drehte nun im Mittel von vielen Bestimmungen den polarisirten Strahl um $\alpha_{(a)} = + 1{,}4$, die Röhre (b) um $\alpha_{(b)} = + 1{,}3$. Nach der Formel $\alpha j = \frac{\pm \alpha}{p \cdot l}$, worin α die beobachtete Ablenkung, p der Gehalt von 1 Ccm. Flüssigkeit an circumpolarisirendem Stoff in Grammen, l die Länge der Röhre in Decimetern, αj die specifische Drehung bedeuten, bestimmen sich diese letztern zu

in (a) $$\alpha j = \frac{+ 1{,}4}{2{,}2 \cdot 0{,}005} = + 127{,}27^{0}$$

in (b) $$\alpha j = \frac{+ 1{,}3}{2{,}0 \cdot 0{,}005} = + 130^{0}.$$

Es ergibt sich also unzweifelhaft: der durch Glycerininjectionen erzeugte glycogenartige Körper ist wirkliches gewöhnliches Glycogen; die specifische Drehung ist rechtseitig und beträgt für gelbes Licht circa 130⁰.

Bei dieser Versuchsreihe wurden auch noch die Muskeln des Controlthieres auf ihren Gehalt an Glycogen untersucht.

1) Man vergleiche über letztern Punkt: Zur Glycogenbildung in der Leber, von B. Luchsinger, med. stud. Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1872. Nr. 9.

Es wurde dieses von den beiden starken Brustmuskeln nach Brücke's Methode bestimmt und gleich 0,817 Grm. gefunden. Es ergibt sich somit: Werden auch längere Zeit (hier 9 Tage) mit der Nahrung keine Kohlenhydrate verabreicht, so finden sich bei Hühnern in den Muskeln noch reichliche Quantitäten Glycogen, während solches aus der Leber bereits bis auf unwägbare Spuren geschwunden ist.

Das Ergebniss der Glycerininjectionen beim Huhn war nun auch für das Kaninchen zu constatiren. Nachdem die beiden ersten Kaninchen, wohl in Folge zu starker Concentration des Glycerins (es war das eine Mal unverdünntes, das andere Mal eine Lösung von 30 pCt. Glyceringehalt gegeben worden), in kurzer Zeit unter Diarrhöe und Krämpfen verendet waren, wandte ich bei einem dritten Versuche mit 9 Theilen Wasser verdünntes Glycerin an.

Versuch Nr. 7. Einem kräftigen Kaninchen, das 5 Tage gehungert, wurde um 6 Uhr Morgens, weiter um 8, 10, 12, 3, 5 Uhr je 50 Ccm. dieser 10procentigen Glycerinlösung injicirt, im Ganzen also 30 Ccm. Glycerin gegeben. Erwähnt sei, dass das Thier in den letzten Stunden an heftiger Diarrhöe litt, wodurch es stark herunterkam. Um 7 Uhr Abends wurde das Thier getödtet. Es fanden sich in der Leber 0,778 Grm. Glycogen. Aber auch in den Muskeln zeigte sich Glycogen in reichlicher Menge; leider ist die quantitative Bestimmung verunglückt.

Da ich bis jetzt in den Muskeln von Hungerkaninchen, ganz entgegen dem Befund bei Hungerhühnern, nie auch nur Spuren von Glycogen auffinden konnte, so folgt aus unserm Versuche: Durch Glycerininjectionen in den Magen steigt bei Kaninchen der Glycogengehalt der Leber sowohl wie der Muskeln.

Soll nun Glycerin als Ersparnissmittel wirken, soll Glycogen deshalb in der Leber und in den Muskeln des Hungerthieres nach Glycerininjectionen in den Magen sich mehren, weil Glycerin leichter verbrennt als Glycogen und so die Oxydationsprocesse des Körpers von diesem ablenkt, so müssen offenbar subcutane Glycerininjectionen den nämlichen Erfolg haben, vorausgesetzt, solche Injectionen machen das Thier nicht krank.

Versuch Nr. 8. Es wurden einem kräftigen Kaninchen, das 4 Tage gehungert, 2 kleine Einschnitte in die Rückenhaut gemacht, mit einer stumpfen Hohlsonde liess sich dann sehr leicht die Haut vom Zellgewebe

abheben und so jederseits unter dieser eine ziemlich geräumige Tasche bilden. Blutungen traten dabei nicht auf. Es wurden nun um 12, 2, 3. 30, 5, 6 Uhr abwechselnd bald in die eine, bald in die andere Tasche je 20 Ccm. einer Glycerinlösung von 50 pCt. injicirt; im Ganzen bekam also das Thier 50 Ccm. reines Glycerin. Um 8 Uhr Abends wurde es getödtet. Einen rasch vorübergehenden Krampfanfall, der eine halbe Stunde nach der dritten Injection auftrat, ausgenommen, war das Thier bis zur Tödtung vollkommen munter, durchaus kein Krankheitssymptom war zu bemerken. Es ist sogar bemerkenswerth, dass Kaninchen Glycerin subcutan in viel grösserer Dosis und stärkerer Concentration zu vertragen scheinen als vom Magen aus. Die Resorption war ziemlich rasch vor sich gegangen; dass das Thier isolirt gehalten wurde, sei diesmal noch besonders hervorgehoben. Die Untersuchung auf Glycogen ergab nun in der Leber nur Spuren, in den Muskeln nicht einmal solche.) Bei der Section fand sich kein Glycerin mehr in den Rückentaschen; das Zellgewebe des Rückens zeigte sich, was aber wohl nicht von grossem Belang, ziemlich stark ödematös infiltrirt. Der Harn war mehrere Male ausgepresst worden, Trommer's Probe ergab nie Zucker.

Dies Resultat ist jedenfalls vom Standpunkte der Ersparnisshypothese ein auffallendes. Zum Mindesten hatte man, denke ich, nach diesen subcutanen Injectionen gleichviel Glycogen in Leber und Muskeln erwarten dürfen, wie nach den Injectionen in den Magen resultirte. Eintritt von Krankheit kann hier zudem nicht als Grund für das Fehlen von Glycogen betrachtet werden. da das Thier sich sogar jedenfalls bis ans Ende viel besser befand, als das Kaninchen, das die Injectionen in den Magen erhielt.

Ich versuchte es nun weiter mit andern, als leicht verbrennlich angesehenen Stoffen, so mit Fett. Wenn auch schon eine Anzahl älterer Versuche mit Fettdarreichung und negativem Resultate existiren, so hielt ich doch wegen des neuen Gesichtspunkts einerseits, der jetzt erst möglichen genügenden Reindarstellung von Glycogen andrerseits für wünschenswerth, solche Versuche nochmals aufzunehmen. Frische Butter kochte ich, um den Zucker zu entfernen, mehrmals mit grossen Quantitäten Wasser aus, bis das Waschwasser auf kleine Quantität eingeengt, Trommer's Probe nicht mehr gab. Vor den Injectionen wurde das Fett dann stets auf Körpertemperatur erwärmt, damit es flüssig würde.

Versuch Nr. 9. Als Versuchsthier wurde ein Huhn gewählt, das ganz die oben angegebene Diät erhalten. Sein Gewicht betrug am Anfang des Versuchs 1200, am Ende 1165 Grm. Es erhielt 5 Injectionen, um 8,

10, 12, 2 und 4 Uhr je 12 Ccm. Um 8 Uhr Abends wurde es getödtet. Es hatte im Ganzen 60 Ccm. Fett erhalten, was auf Kohlenstoff berechnet, mehr denn 100 Grm. Glycerin entsprechen würde [1]). In der Leber ergaben sich nur Spuren von Glycogen, wohl aber sah man reichliche Fetttropfen auf der Oberfläche des ersten Decocts schwimmen, vielleicht mit ein Beweis für die Resorption des Fettes; dass eine solche aber wirklich auch eingetreten war, ergab die Untersuchung des Verdauungsschlauches. In den Muskeln fand sich auch diesmal, wie bei dem Controlthier (Nr. 1) reichlich Glycogen.

Mit dem Resultate der Fettfütterung stimmt folgende gelegentliche Erfahrung. Unter meinen Hühnern fanden sich einige sehr stark gemästete Thiere. Diese wählte ich nun mehrere Male zur Controle. Am Ende der Versuchszeit fanden sich noch reichliche Mengen Fett vor, in der Leber aber nur Spuren von Glycogen, während dieses auch hier in den Muskeln reichlich sich vorfand. Die Thiere besassen offenbar einen reichen Vorrath von anderem Brennmaterial in sich, hatten sich deshalb aber durchaus Nichts an Glycogen erspart. Nach der Ersparnisshypothese würde hieraus zu vermuthen sein, dass Glycogen respective Zucker leichter verbrennliche Körper seien als Fett.

Versuch Nr. 10. Noch ein anderes Glycerid, die Glycerinphosphorsäure, unterwarf ich dem Versuche. 20 Grm. Calciumsalz wurden einem Hungerkaninchen gegeben. In der Leber zeigten sich nur Spuren von Glycogen. Die. entsprechende Glycerinmenge betrug nun allerdings kaum 9 Grm., so dass ich diesem Versuche kein sehr grosses Gewicht beimessen kann. Eine Wiederholung des Versuchs mit grössern Quantitäten ist jedenfalls sehr wünschenswerth.

Eine andere Gruppe von Versuchen stellte ich mit den Salzen organischer Säuren an, von welchen es feststeht, dass sie im Organismus zu kohlensauren Salzen verbrennen.

Ich wählte dazu vor Allem diejenige Säure, in welche der Zucker zum Theil wenigstens im Darm zerfällt, welche also normal wohl am meisten eine Glycogenersparung bewirken dürfte — die Milchsäure.

Versuch Nr. 11. Ein ziemlich kräftiges Huhn von 1100 Grm. Gewicht am Ende des Versuchs bekam um 9, 12, 2 Uhr 30 M. je 40 Ccm.

---

1) Das in der Fettmenge chemisch enthaltene Glycerinquantum würde etwa 6 Grm. betragen. Natürlich soll dieser Versuch nicht etwa als Einwand gegen die Weiss'sche Deutung der Glycerinversuche gelten, denn mit beiden Ansichten ist es vereinbar, dass Glycerin im freien Zustand zur Glycogenbildung Anlass gibt, in den Glyceriden nicht.

einer Lösung von milchsaurem Natron von 30 pCt. Milchsäuregehalt. Gegen 4 Uhr trat starke Diarrhöe und zunehmende Schwäche auf. Deshalb wurde es 4 Uhr 15 M. getödtet. Im Ganzen hatte es 36 Grm. Milchsäure erhalten, was nach Kohlenstoffgehalt ungefähr ebenso viel Glycerin entspricht. In der Leber fand sich keine Spur von Glycogen.

Versuch Nr. 12. Einem starken Kaninchen, das 4 Hungertage hatte, wurden um 6, 8, 10, 12 Uhr je 30 Ccm. einer Lösung von milchsaurem Natron (Milchsäuregehalt 12 pCt.) injicirt; gegen 2 Uhr bemerkte ich starke Diarrhöe und grosse Mattigkeit des Thieres, worauf ich für gut fand, es zu tödten. Im Ganzen hatte das Thier nahezu 15 Grm. Milchsäure erhalten. In der Leber fanden sich nur unwägbare, durch die Jodreaction aber noch deutlich erkennbare Spuren von Glycogen, in den Muskeln keine Spur.

Da die Thiere in erwähnten Versuchen stark herunterkamen, glaubte ich die injicirten Mengen und die Concentration heruntersetzen zu müssen. Um dann aber doch noch so viel wirksame Substanz geben zu können, dass eine bestimmte Antwort von dem Versuche zu erwarten war, schien mir nothwendig, die Injectionen auf einen grössern Zeitraum auszudehnen, also einen Tag vor der Tödtung schon mit denselben zu beginnen. Eine solche Ausdehnung des Versuchs musste erlaubt sein; sie könnte höchstens, auch abgesehen von der bezweckten grössern Schonung des Thieres, wäre die Ersparnisshypothese richtig, einen günstigern Einfluss auf die Anhäufung von Glycogen ausüben, da offenbar leicht verbrennliche Molecüle, gleiche Anzahl vorausgesetzt, um so besser vom Organismus ausgenützt werden könnten, je weniger auf einmal in der Blutbahn kreisen.

Versuch Nr. 13. Einem kräftigen, wie angegeben vorbereiteten Huhn von 1200 Grm. Gewicht am Ende des Versuchs wurden um 12, 2, 4, 6 Uhr des ersten Tages, dann um 7, 8 Uhr 30 Min., 11, 12 Uhr 30 M., 2, 3 Uhr 30 M. je 20 Ccm. einer Lösung von milchsaurem Natron von 10 pCt. Milchsäuregehalt injicirt, im Ganzen also 20 Grm. Milchsäure. Gegen 12 Uhr Mittags des zweiten Tages trat stärkere Diarrhöe ein, gegen 4 Uhr bedeutende Mattigkeit, weshalb dann der Versuch beendet wurde. In der Leber fanden sich nur Spuren von Glycogen, in den Muskeln dagegen noch reichliche Mengen.

Diese Versuche hatten sämmtlich, wie man sieht, das unbefriedigende, dass die Thiere ziemlich stark herunterkamen. Fand sich dann kein Glycogen, so konnte man nach einer beliebten Redensart die eintretende Krankheit als Ursache dieses Mangels beschuldigen (vgl. übrigens oben Versuch 3). Ich versuchte es deshalb noch mit einer andern Säure, mit der Weinsteinsäure. Ich gab auch diese als Natronsalz in einer Lösung von 10 pCt. Säure.

Versuch Nr. 13. Ein kräftiges Huhn von 1150 Grm. Gewicht am Ende des Versuchs erhielt (auch hier zog ich vor, die Zeit der Injection auszudehnen), um 12, 2, 4, 6 Uhr, dann den zweiten Tag um 7, 8. 30, 11, 12. 30, 2, 3. 30, 5, 6 Uhr Injectionen zu je 30 Ccm., im Ganzen somit 360 Ccm., was 36 Grm. Weinsäure, oder nach Kohlenstoffgehalt berechnet, 30 Grm. Glycerin entspricht. Geringe, in der letzten Zeit erst stärker werdende Diarrhöe ausgenommen, war das Thier bis zu Ende völlig munter geblieben. Alle Zeichen von Mattigkeit, die so constant schliesslich bei den Milchsäurethieren auftraten, blieben hier gänzlich fern. Um 8 Uhr wurde das Thier getödtet. Während Glycogen sich auch diesmal noch in beträchtlicher Menge in den Muskeln vorfand, zeigten sich in der Leber nur unbedeutende, durch die Jodreaction eben deutlich erkennbare Spuren, ein Resultat, das entschieden zu Ungunsten der Ersparnisshypothese spricht.

Dies meine Versuche mit leichter oxydabeln Molecülen; sie bezweckten zu untersuchen, ob im Sinne der Ersparnisshypothese durch Beschlagnahme von Sauerstoff eine Anhäufung von Glycogen bewirkt werden könnte. Ziemlich gleichzeitig betrat ich aber noch einen andern Weg, die Frage zur Entscheidung zu bringen. Jetzt von der Hypothese der Anhydridbildung ausgehend, versuchte ich, ob nicht andere Zuckerarten andere Glycogene liefern, welche sich dann wieder durch saccharificirende Fermente in ihre Generatoren spalten liessen. Leider aber waren mir bis jetzt nur wenige andere Zuckerarten in genügender Menge zugänglich, es sind dies: Mannit, Milchzucker und Fruchtzucker.

Die Versuche mit Mannit (Nr. 14, 15 u. 16), am Huhn und Kaninchen unternommen, führten zu keinem befriedigenden Resultate. Nur soviel steht fest, gewöhnliches Glycogen bildet sich nicht und ein anderes Glycogen ist wenigstens nach Brücke's Methode auch nicht zu entdecken.

Versuch Nr. 17. Der Injectionsstoff war hier käuflicher Milchzucker, der mit der Gährungsprobe auf Traubenzucker geprüft, sich frei davon bewies. Einem Kaninchen, das 5 Tage gehungert, wurde eine Lösung von 15 pCt. Milchzuckergehalt um 8, 11, 2, 4 Uhr zu je 50 Ccm. injicirt, im Ganzen also 30 Grm. Milchzucker. Das Thier befand sich bis ans Ende, das 7 Uhr Abends gesetzt wurde, wohl. In der Leber fanden sich 0,32 Grm. Glycogen, eine ziemlich geringe Menge, ein Resultat, das vielleicht gerade in dem leichtern Zerfall dieses Zuckers in Milchsäure seinen Grund haben dürfte. (Auch in den Muskeln waren diesmal geringe MengenGlycogen durch die Jodreaction nachweisbar.)

Eine genauere Untersuchung über das Verhalten dieses Zuckers,

sowie dessen Spaltungsproductes — der Galactose — zur Glycogenbildung wird zu meinen nächsten Aufgaben gehören; es wird dann auch eine quantitative Vergleichung des resultirenden Glycogens mit dem Normalglycogen vorzunehmen sein, von welchem es sich durch qualitative Reactionen nicht unterscheiden liess.

Weiter machte ich Versuche mit Fruchtzucker. Es ist dieser Zucker von gleicher Elementarzusammensetzung wie der Traubenzucker, scheint aber wesentlich andere Gruppirung der Atome im Molecül zu haben, wie seine linkseitige Circumpolarisation andeutet. Ich war nun sehr begierig zu sehen, ob wohl dieser linksdrehende Zucker ein anderes Glycogen liefere, welches sich durch saccharificirende Fermente wieder in seinen linksdrehenden Generator spalten liesse.

Der Fruchtzucker als solcher lässt sich schwer beschaffen. Ich wählte deshalb zu dem Versuche Inulin, ein Anhydrid desselben. Durch Vorversuche überzeugte ich mich, dass mein Inulin (aus dem Laboratorium von Merck bezogen) sehr leicht durch Säuren, Speichel, ja schon durch blosses längeres Kochen in Kupferoxyd reducirenden Zucker übergeht. Dieses Spaltungsproduct war wie Inulin selbst stark linksdrehend. Das Inulin ist in Wasser bei einer Temperatur von c. 50° leicht löslich. Bei dieser Temperatur wurde es in 5 Theilen Wasser gelöst und die auf Körpertemperatur erkaltete Masse als dünner Brei zu den Injectionen benutzt.

Versuch Nr. 18. Einem Kaninchen mittlerer Grösse, das 6 Tage gehungert, wurden um 6, 8, 10, 12, 2, 4 Uhr je 30 Ccm. injicirt. Das Thier erhielt so im Ganzen c. 40 Grm. Inulin. Es war die ganze Zeit über vollkommen munter, um 6 Uhr wurde es getödtet. Es fanden sich in der Leber 0,53 Grm. glycogenartiger Substanz, auch in den Muskeln erhebliche Mengen.

Zur Vergleichung mit unserm Normalglycogen wurde auch dieser glycogenartige Körper auf sein Verhalten gegen den polarisirten Strahl geprüft. Sein Drehvermögen war rechtsseitig und wurde zu + 140° bestimmt. Unser Normalglycogen hatte ein specifisches Drehvermögen von circa 130°.

Bedenkt man aber, dass an unserm Apparate die Einheiten nur in 5 Theile getheilt sind, die Zahl 1,3, woraus die specifische Drehung 130° berechnet wurde, also gar nicht abzulesen, sondern nur als Mitte zwischen 1,2 und 1,4 zu schätzen war,

bedenkt man ferner, wie kleine Aenderungen in den beobachteten Zahlen hier Dank der so starken Verdünnung der Lösung schon beträchtliche Ausschläge im Schlussresultat hervorrufen müssen, so zeugt dies Ergebniss zur Genüge von der Identität der beiden Glycogene.

Zum Ueberfluss wurde noch eine Quantität dieses Glycogens durch Kochen mit verdünnter Salzsäure in Zucker übergeführt. Auch dessen specifische Drehung fand sich positiv.

Vom Standpuncte der Ersparnisshypothese war dies Resultat vorauszusehen. Allein es entscheidet durchaus Nichts zu deren Gunsten gegen die Hypothèse der Anhydridbildung. Denn es kann ja sehr wohl sein, dass das aus verschiedenen Ingredientien sich aufbauende Glycogen nicht immer nur durch blosse Anhydridbildung entsteht, sondern dies einzig für sein directes Spaltungsproduct, für den Traubenzucker, der Fall ist. Dieser selbst aber könnte sich ja möglicherweise auch aus anderen Stoffen aufbauen, sehr wohl wäre eine Umwandlung verschiedener Zuckerarten in Traubenzucker im Organismus denkbar. In den inulinhaltenden Pflanzen wird die assimilirte Stärke als Inulin abgelagert und mit Beginn der Keimung, bevor noch Assimilationsorgane existiren, tritt wieder Stärke als Material zur Bildung junger Zellhäute unter Schwinden des Inulins auf (vgl. Sachs, Experimentalphysiologie der Pflanzen pag. 376 u. flgd.). In diesen Fällen ist aber die wechselseitige Umwandlung von Stärke und Inulin nur möglich durch eine entsprechende Umwandlung ihrer Vorstufen des rechtsdrehenden Traubenzuckers und des linksdrehenden Fruchtzuckers. Die Annahme, dass sich auch im thierischen Organismus linksdrehender Fruchtzucker in rechtsdrehenden Traubenzucker umsetzt und so mittelbar Glycogen durch Synthese erzeugt, ist somit eine berechtigte; sie findet in anerkannten Thatsachen ihre Analogien.

Fassen wir am Schlusse dieser Mittheilungen unsere Resultate zusammen, so ergibt sich, dass, Glycerin ausgenommen, nur solche Substanzen den Glycogengehalt der Leber zu steigern vermochten, die selbst zur Gruppe der Kohlenhydrate gehören, Injectionen anderer, leicht verbrennlicher Molecüle aber ohne Erfolge waren. Angesichts dieser Ergebnisse liegt es nahe, die Beziehungen von Glycerin zu den Kohlenhydraten, speciell zu

Zucker näher zu studiren, insbesondere zuzusehen, ob eine Umwandlung von Glycerin in Zucker wirklich so unwahrscheinlich sei, wie Weiss dies am Schlusse seiner Abhandlung hinzustellen sucht. Dass dieser hierbei so mancher einschlägigen Angaben, die darüber bereits in der Literatur sich vorfinden, mit keinem Worte gedenkt, war mir überraschend. Abgesehen von der chemisch sogar sehr ähnlichen Structur finden sich mehrere Thatsachen, die einer Umwandlung von Glycerin in Zucker in Organismen einen bedeutenden Grad von Wahrscheinlichkeit zu verleihen vermögen, wenn es gleich bis jetzt noch nicht hat glücken wollen, den Process im Laboratorium durchzuführen. (Ich erinnere hierbei an die Arbeiten von van Deen, Huppert, Perls.)

In den Samen der meisten Pflanzen findet sich Stärke als Baumittel für die Zellhäute des keimenden Pflänzchens. Einige aber besitzen offenbar als Aequivalent dafür reichliche Mengen fette Oele, und erst mit Beginn der Keimung vor Entwicklung der Assimilationsorgane treten Stärke und Zucker auf unter Schwinden des Fettes. Es ist nun sehr wahrscheinlich, dass das Fett während der Keimung sich spaltet, Glycerin zur Bildung der chemisch so ähnlich gebauten Kohlenhydrate verwendet wird, die Fettsäuren aber vielleicht zum Aufbau von Eiweisskörpern, in deren Molecül sie ja existiren, beitragen. Weiter will ich an die Versuche von Berthelot[1]) erinnern, der Zuckerbildung bei Contact von Glycerin mit frischer Hodensubstanz beobachtete. Diese Versuche erleiden allerdings etwas Einbusse an Beweiskraft, seit von Kühne Glycogen im Hoden nachgewiesen ist[2]). Das Glycogen, dessen leichter Uebergang in Zucker in absterbenden Geweben bekannt ist, hätte so aber wohl nur einmal Zuckerbildung aus Glycerin vortäuschen können; bedenkt man aber, dass nach Berthelot's Angaben der nämliche Versuch mehrmals mit dem gleichen Erfolg mit der gleichen Hodensubstanz hat angestellt werden können, wobei sorgfältigstes

---

1) Ann. de Chim. et. Phys. [3] L. p. 346.

2) Gegenüber den Angaben von Treskin (Pflüger's Arch. Bd. V, p. 122—130) kann ich bemerken, dass ich in Hoden von Sommerfröschen stets Glycogen habe nachweisen können (Winterfrösche habe ich noch nicht darauf untersucht); auch im Hoden gut genährter Hunde ist mir der Nachweis mehrere Male geglückt, in einigen andern Fällen allerdings erhielt ich negative Resultate.

Auswaschen der Hodensubstanz sich dann wohl von selbst verstand, so ist es, bis weitere genauere Versuche, denen ich mich in nächster Zeit zu unterziehen gedenke, anderes lehren, wohl noch gestattet, auch mit diesem Versuch auf die Möglichkeit einer Umwandlung von Glycerin in Zucker hinzuweisen. Endlich muss ich Weiss an die unbezweifelte Angabe Pasteur's erinnern, dass bei der Zuckergährung sehr erhebliche Mengen Glycerin entstehen, also ein chemischer Zusammenhang beider Körper in umgekehrter Reihenfolge sicher existirt.

Unterstützt von Wahrscheinlichkeiten solcher Art möchte ich nun auf Grund meiner Versuche mit leicht oxydabeln Molecülen behaupten: das Glycerin vermehrt den Glycogengehalt der Leber nicht, weil es leicht verbrennt und so Glycogen erspart, sondern weil es, zum Theil wenigstens der Oxydation entrinnend, im Körper ein Organ erreicht, das seine Umbildung in Zucker ermöglicht. Nach der Hypothese der Anhydridbildung wäre dann Glycogen das vorläufige Endproduct dieser Umwandlung. Den Ort dieses Processes möchte ich in die Leber verlegen. Die entgegengehaltene schnelle Verbrennlichkeit von Glycerin in der Blutbahn kann kein ernstlicher Einwand sein. Denn bedenkt man, wie beträchtliche Mengen Glycerin bei den Versuchen verwendet werden, dann ist wohl einleuchtend, dass ein Theil davon auf dem kurzen Wege vom Darm zur Leber noch dazu in dem venösen Pfortaderblute der Sauerstoffzehrung entrinnen kann. Dass gerade die Leber die Glycerinumwandlung besorgt und das Pfortaderblut ein sicheres Transportmittel dahin abgibt, dafür scheint mir gerade mein Versuch mit den subcutanen Glycerininjectionen zu sprechen.

Ich glaube demnach auf Grund meiner Versuche mich für die Annahme einer directen Entstehung von Glycogen aus zugeführten Kohlenhydraten und Glycerin aussprechen zu müssen. Diese Annahme steht mit keiner bekannten Thatsache in Widerspruch, während die Ersparnisshypothese nicht zu erklären vermag, warum die Einführung von milchsauren und weinsauren Alkalien und subcutane Beibringung von Glycerin keinen Glycogengehalt der Leber zur Folge hat, und warum Zucker, dessen Verbrennlichkeit durchaus zweifelhaft ist, auch bei gut genährten Thieren stärkere Glycogenanhäufung bewirkt, als das leicht ver-

brennliche Glycerin. Vielleicht der bedeutendste Einwand aber, den man der Ersparnisshypothese machen kann, betrifft die ihr stillschweigend zu Grunde liegende Annahme, dass der Organismus über ein bestimmtes ziemlich unveränderliches Sauerstoffquantum zu verfügen hat und zugleich dasselbe irgendwie zu Verbrennungen verbrauchen muss, wobei die am leichtesten verbrennlichen Substanzen zuerst an die Reihe kommen. Ich möchte Weiss fragen, auf welche physiologischen Thatsachen er diese Annahme stützen will. Mir scheint im Gegentheil aus Allem hervorzugehen, dass der Umfang der Verbrennungen durch die Functionen und die im Organismus anwesenden Substanzen bedingt ist, und dass immer reichlich Sauerstoff zu Gebote steht und überschüssiger Sauerstoff selbst im Venenblute noch vorhanden ist. Dass eine ähnliche Ersparnisshypothese schon früher zur Erklärung des Fettansatzes durch Kohlenhydratzufuhr aufgestellt worden ist, gibt dieser Vorstellung keine grössere Berechtigung. Mir scheint, Weiss müsste in dieser Vorstellung grössere Schwierigkeit finden, als er, wie er, übrigens ohne Motivirung, angibt (pag. 3), in der Glycogenbildung aus Zucker gefunden hat, und selbst als in der Annahme einer Glycogenbildung aus Glycerin, die aus seinen, übrigens höchst dankenswerthen Versuchen zunächst zu vermuthen ist.

In mehreren Punkten betrachte ich diese Mittheilung meiner Versuche nur als eine vorläufige. Weitere Versuche, die Frage einer sichern Entscheidung entgegenzuführen, werde ich in nächster Zeit aufnehmen. Dass ich jetzt schon diese noch fragmentarischen Ergebnisse der Oeffentlichkeit übergebe, mag durch die rege Aufmerksamkeit entschuldigt werden, deren sich gerade jetzt wieder diese Frage erfreut.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Hermann, hier meinen aufrichtigen Dank für so manchen geleisteten Rath auszusprechen.

Zürich, im September 1873.